

氏 名	和田 諭子
学位の種類	博士（ 医学 ）
学位記番号	第 5856 号
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項
学位論文名	Relationship between Oxidative Stress and Aortic Valve Stenosis in Humans: An Immunohistochemical Study (ヒトにおける酸化ストレスと大動脈弁狭窄症との関連性：免疫組織化学的 討)
論文審査委員	主 査 上田 真喜子 教授      副 査 鰐渕 英機 教授 副 査 末廣 茂文 教授

## 論文内容の要旨

### 【目的】

酸化ストレスは、冠動脈内のプラーク形成とプラーク不安定化に重要な役割を担っている。一方、大動脈弁狭窄症の進行過程と臨床的危険因子については、動脈硬化症のそれらと類似することが既にいくつかの研究で報告されている。本研究において我々は、大動脈弁狭窄症患者の外科的に切除された凍結大動脈弁組織標本を免疫組織化学的に検索し、酸化ストレスマーカーである 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) の発現や炎症細胞集積、微小血管新生との関連性について検討した。

### 【対象・方法】

重症大動脈弁狭窄症に対して大動脈弁置換術が施行され、凍結大動脈弁組織が外科的に採取された 24 例を検討した。凍結連続切片を作製した後、平滑筋細胞、マクロファージ、微小血管 (CD31) の局在と 4-HNE の発現について、各モノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的に解析した。また、対照群として非心血管死による剖検 15 例から得られた凍結大動脈弁標本についても同様に免疫組織化学的に検索した。さらにこれらの発現程度について画像解析装置を用いて統計学的に検定した。マクロファージ陽性面積と 4-HNE 陽性面積の比から 4-HNE 陽性マクロファージスコアを算出した。

### 【結果】

大動脈弁狭窄症群では石灰化が強く、石灰化部位の付近に特にマクロファージが集積していた。定量的解析によると、マクロファージ陽性領域の割合と CD31 陽性微小血管数は、対照群よりも大動脈弁狭窄症群で有意に高値であった (マクロファージ,  $p<0.005$ , CD31,  $p<0.0001$ )。さらに、4-HNE 陽性マクロファージスコアは、対照群と比較して大動脈弁狭窄症群で有意に高値であった ( $p<0.005$ )。

### 【結論】

重症大動脈弁狭窄症例の大動脈狭窄弁において 4-HNE が有意に発現していることが明らかとなった。このことより、大動脈弁狭窄症の進展には、酸化ストレスが密接に関与していることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

酸化ストレスは、冠動脈内のプラーク形成とプラーク不安定化に重要な役割を担っている。一方、大動脈弁狭窄症の進行過程と臨床的危険因子については、動脈硬化症のそれらと類似することが既にいくつかの研究で報告されている。本研究では、大動脈弁狭窄症患者の外科的に切除された凍結大動脈弁組織標本を免疫組織化学的に検索し、酸化ストレスマーカーである 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) の発現や炎症細胞集積、微小血管新生との関連性について検討した。

方法は、重症大動脈弁狭窄症に対して大動脈弁置換術が施行され、凍結大動脈弁組織が外科的に採取された 24 例を対象とし、凍結連続切片を作製した後、平滑筋細胞、マクロファージ、微小血管 (CD31) の局在と 4-HNE の発現について、各モノクローナル抗体を用いて免疫組織化学的に解析した。また、

対照群として非心血管死による剖検 15 例から得られた凍結大動脈弁標本についても同様に免疫組織化学的に検索した。さらにこれらの発現程度について画像解析装置を用いて統計学的に検定した。マクロファージ陽性面積と 4-HNE 陽性面積の比から 4-HNE 陽性マクロファージスコアを算出した。

結果は、大動脈弁狭窄症群では石灰化が強く、石灰化部位の付近に特にマクロファージが集積していた。定量的解析によると、マクロファージ陽性領域の割合と CD31 陽性微小血管数は、対照群よりも大動脈弁狭窄症群で有意に高値であった（マクロファージ,  $p<0.005$ 、CD31,  $p<0.0001$ ）。さらに、4-HNE 陽性マクロファージスコアは、対照群と比較して大動脈弁狭窄症群で有意に高値であった（ $p<0.005$ ）。

以上の結果より、重症大動脈弁狭窄症例の大動脈狭窄弁において 4-HNE が有意に発現していることが明らかとなり、大動脈弁狭窄症の進展には、酸化ストレスが密接に関与していることが示唆された。

本論文は、大動脈弁狭窄症と酸化ストレスとの関連性を示唆する重要な知見であり、大動脈弁狭窄症の進展機序の解明に寄与するものと考えられる。よって、本研究者は博士（医学）の学位を授与されるに値するものと判定された。